

## بررسی تأثیر مایع آمنیوتیک در جلوگیری از چسبندگی داخل شکمی پس از لاپاراتومی در موش صحرایی

دکتر سیدابراهیم نوریان<sup>\*</sup>، دکتر مهرداد قریشی<sup>\*\*</sup>، دکتر وحید گوهریان<sup>\*\*\*</sup>، دکتر سیاوش صحت<sup>\*\*\*\*</sup>

### چکیده:

**زمینه و هدف:** مایع آمنیوتیک با توجه به دارا بودن اسید هیالورونیک<sup>۴</sup> که عاملی در بهبود و ترمیم زخم در جنین است، به نظر می‌رسد که می‌تواند در کاهش چسبندگی مؤثر باشد. هدف این مطالعه تعیین تأثیر مایع آمنیوتیک در جلوگیری از چسبندگی داخل شکمی پس از لاپاراتومی در موش صحرایی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، ۳۰ عدد موش صحرایی (Rat) مذکر به وزن تقریبی  $220 \pm 20$  GR، به صورت تصادفی به دو گروه مساوی ۱۵ تایی تقسیم شدند. پس از باز کردن جدار شکم با شکاف، خط وسط روی پریتون قسمت راست شکم حدود ۱۰ شکاف طولی به طول حدود ۲-۳ سانتیمتر ایجاد شده و از قسمت چپ پریتون نیز قطعه‌ای به ابعاد تقریبی یک در یک سانتیمتر برداشته شد. در گروه اول که گروه مورد بودند قبل از بستن شکم ۵ سی‌سی مایع آمنیوتیک انسان داخل شکم ریخته شد. در گروه دوم نیز که گروه شاهد بودند، ۵ سی‌سی نرمال سالین قبل از بستن شکم ریخته شد. درجه‌بندی میزان چسبندگی ایجاد شده توسط یک نفر که به گروه‌بندی موش‌های صحرایی آگاهی نداشت و با استفاده از مقیاس Ahmet Canbaz انجام شد. اطلاعات جمع‌آوری شد و  $P < 0.05$  معنی‌دار تلقی شد.

**یافته‌ها:** در مقایسه دو گروه شاهد و مورد، مشاهده شد که میزان چسبندگی در گروه مورد، به طور معنی‌داری، کمتر از گروه شاهد بود ( $P = 0.008$ ). میانگین درجه چسبندگی در گروه مورد،  $1/3 + 1/13$  و در گروه شاهد  $2/5 + 1/18$  به دست آمده است ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** مایع آمنیوتیک انسان با توجه به محتوای اسید هیالورونیک آن و نقشی که در ترمیم و بهبود زخم‌های جنین دارد در کاهش چسبندگی داخل شکمی پس از عمل جراحی مؤثر می‌باشد.

### واژه‌های کلیدی: چسبندگی داخل شکمی، مایع آمنیوتیک، موش صحرایی

### زمینه و هدف

آسیب‌های وارده بر سطح پریتون و وجود ضایعات ایسکمیک نقش مهمی در ایجاد چسبندگی‌های داخل شکمی ایفا می‌کنند. اجسام خارجی همچون پودر تالک و سوچورهای

انسداد روده مسئول حداقل ۲۰٪ از پذیرش‌ها در بخش جراحی است و نزدیک به ۸۰-۶۰٪ از انسدادهای روده ثانویه به چسبندگی‌های پس از عمل جراحی می‌باشد.<sup>۱</sup>

نویسنده پاسخگو: دکتر سیدابراهیم نوریان

تلفن: ۰۳۱۱-۶۲۵۵۵۵۵

Email: e\_nourian@med.mui.ac.ir

<sup>\*</sup> استادیار گروه جراحی عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، بیمارستان الزهراء، بخش جراحی عمومی

<sup>\*\*</sup> دستیار گروه جراحی عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، بیمارستان الزهراء

<sup>\*\*\*</sup> دستیار گروه جراحی قفسه سینه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، بیمارستان الزهراء

<sup>\*\*\*\*</sup> استاد جراحی، دانشکده پزشکی اصفهان

تاریخ وصول: ۱۳۸۵/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۰۱/۲۲

بکار رفته در حین عمل، عفونت و نشست از روده‌ها از دیگر عوامل مؤثر هستند.<sup>۲</sup> عدم تعادل بین تشکیل و تخریب فیبرین، رخداد اصلی در سیر تشکیل چسبندگی‌ها می‌باشد.<sup>۳</sup> یکی از مواردی که عنوان شده می‌تواند در جلوگیری از چسبندگی نقش ایفا کند اما در مورد آن مطالعات کافی انجام نشده است، مایع آمنیوتیک می‌باشد و با توجه به محتوای هیالورونیک اسید این مایع و نیز توانایی آن در ترمیم زخم‌های جنینی<sup>۴</sup> و همچنین توانایی آن در شکل دادن منظم به کلاژن‌ها، این نظریه که مایع آمنیوتیک قادر به کاهش تشکیل چسبندگی می‌باشد مطرح شده است. در این مطالعه بر آنیم که این تأثیر را بررسی کنیم.

## مواد و روش‌ها

نوع مطالعه کاربردی بوده و به صورت Experimental و به صورت Laboratory انجام شد. جمعیت مورد مطالعه، موش‌های صحرایی مذکر با وزن تقریبی  $20 \pm 220$  گرم می‌باشند که از مرکز پرورش حیوانات (لانه حیوانات) دانشکده پزشکی اصفهان تهیه شدند و جهت انجام مطالعه و نگهداری به مرکز تحقیقات پروفیسور ترابی نژاد منتقل شدند.

حجم نمونه مورد مطالعه ۳۰ عدد بود که به صورت آسان (Convenience) انتخاب شدند و به صورت تصادفی (Random) به دو گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند.

مایع آمنیوتیک از زنان بارداری که تحت سزارین الکتیو قرار می‌گرفتند تهیه شد. ضمن اینکه از شرایط مایع فوق این بود که مایع در اتاق عمل و تحت شرایط استریل تهیه شود و آغشته به خون و یا مکنونیوم نباشد، ضمن اینکه خانم باردار نیز سابقه‌ای از پارگی زودرس ممبران و یا عفونت حوالی زایمان نداشته باشد. مایع پس از تهیه در ظرف کمتر از ۲۴ ساعت جهت مطالعه مورد استفاده قرار می‌گرفت و در طی این مدت در شرایط استریل و در درون یخچال آزمایشگاه حداکثر به مدت ۶ ساعت نگهداری می‌شد.

به منظور اجرای این طرح، موش‌های صحرایی به دو گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند. با تکنیک یکسان مورد جراحی قرار گرفتند و پس از دو هفته از عمل جراحی مورد بررسی قرار گرفتند.

تکنیک جراحی به این صورت بود که ابتدا کلیه موش‌های صحرایی با تزریق  $60 \text{ mg/kg}$  کتامین هیدروکلراید بیهوش می‌شدند و در وضعیت سوپاین روی تخت عمل به صورت ثابت قرار می‌گرفتند. سپس موهای شکم موش‌های صحرایی تراشیده شده و با بتادین پرپ شد. پس از آن و به صورت استریل جدار

شکم با یک شکاف طولی در خط وسط و به طول حدود ۴ سانتیمتر باز می‌شد. پس از آن حدود ۱۰ خراش طولی به طول حدود ۲-۳ سانتیمتر بر روی پریتون دیواره راست شکم ایجاد شده و یک قطعه یک در یک سانتیمتر از دیواره چپ شکم برداشته شده پس از آن عضلات شکم موش‌های صحرایی با نخ سیلک و پوست شکم با نخ کات کوت به صورت متوالی بخیه می‌شد.

یک موش صحرایی از گروه شاهد، یک روز پس از عمل به علت باز شدن محل سوچور، فوت کرد که مجدداً جایگزین شد. گروه یک شامل ۱۵ موش صحرایی بودند که گروه مورد را تشکیل می‌داد. در این گروه قبل از سوچور عضلات و پوست شکم، حدود ۵ سی‌سی مایع آمنیوتیک داخل شکم ریخته شد. گروه دو شامل ۱۵ موش صحرایی بودند که گروه کنترل (شاهد) را تشکیل می‌دادند که در آنها، قبل از سوچور عضلات و پوست شکم، حدود ۵ سی‌سی نرمال سالین داخل شکم ریخته شد.

۱۴ روز پس از عمل جراحی، کلیه موش‌های صحرایی با تزریق ۲ سی‌سی لیدوکائین ۲٪ بیهوش شدند و شکم آنها به روش قبلی باز شد و محل آسیب‌های وارده در جراحی قبلی بررسی شد و درجه چسبندگی Adhesion Band ایجاد شده در محل آسیب، با استفاده از جدول (Ahmet Canbaz) تعیین شد (جدول ۱).<sup>۵</sup>

جدول ۱- نحوه درجه‌بندی‌های چسبندگی

درجه چسبندگی	تعداد چسبندگی
۰	چسبندگی قابل رؤیت وجود ندارد
۱	وجود یک باند چسبندگی باریک بدون عروق و به راحتی جدا شونده
۲	وجود دو باند چسبندگی باریک بدون عروق و به راحتی جدا شونده
۳	وجود سه باند چسبندگی باریک بدون عروق و به راحتی جدا شونده
۴	وجود بیشتر از ۳ باند چسبندگی باریک، و بدون عروق و به راحتی جدا شونده یا چسبندگی‌های پراکنده و دارای عروق

پس از اتمام کار، حدود ۱۲ عدد از موش صحرایی به دلایل نامعلومی فوت شدند که به روش بهداشتی معدوم شدند. مابقی موش‌های صحرایی نیز مجدداً سوچور شدند و پس از به هوش

## بحث و نتیجه گیری

هدف از این مطالعه تأثیر مایع آمنیوتیک در جلوگیری از چسبندگی داخل شکمی پس از لاپاراتومی در موش صحرایی بود. چسبندگی داخل شکمی که معمولاً به دنبال عمل جراحی شکمی انجام می‌شوند از مهمترین علل انسداد روده‌ها می‌باشند.<sup>۶</sup> این چسبندگی‌ها به صورت باندهایی می‌باشند که می‌توانند به صورت عارضه‌ای در تمام طول عمر بیمار باشند. Fevang و همکاران<sup>۸</sup> در مطالعه‌ای نشان داده است که ۳۰٪ بیماران که تحت عمل جراحی لیز باندهای چسبندگی قرار گرفته‌اند نیاز مجدد برای جراحی این چسبندگی‌های مجدد دارند.

همچنین در مطالعه‌ای نیز که بر روی حدود ۲۲۹۵ بیمار مبتلا به انسداد روده باریک انجام شد، نشان داده شد که بیش از ۶۴٪ از آنها به دلیل چسبندگی داخل شکمی دچار انسداد شده بودند<sup>۹</sup> و ۸۶٪ از آنها نیز تحت عمل جراحی قبلی شکمی قرار گرفته بودند.<sup>۹</sup>

Ryan اشاره کرد که در آن این فرضیه مطرح شده است که محصولات خونی یک منبع تشکیل فیبرین می‌باشند.<sup>۱۰</sup> مایع آمنیوتیک به دلیل توانایی در ساخت اسید هیالورونیک،<sup>۴</sup> که عاملی در ترمیم و بهبودی زخم در جنین می‌باشد، به نظر می‌رسد که می‌تواند در جلوگیری از چسبندگی داخل شکمی مؤثر باشد. هیالورونیک اسید یک گلیکوز آمینوگلیکان می‌باشد که به وسیله فیبروبلاست‌ها تولید می‌شود. این ماده با وجود اینکه در زخم افراد بالغ هم ایجاد می‌شود ولی تنها در زخم‌های جنینی است که به طور قابل ملاحظه و مداوم ساخته می‌شود<sup>۴</sup> افزایش سطح هیالورونیک اسید در زخم از طرفی باعث بهبودی ترمیم زخم به علت ارگانیزاسیون مناسب کلاژن‌ها می‌شود و از طرف دیگر مشاهده شده است که سبب مهار تشکیل چسبندگی پس از عمل شده است.

تاکنون مطالعات محدودی در زمینه اثر مایع آمنیوتیک در کاهش چسبندگی و اثر آن در التیام زخم شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه‌ای اشاره کرد که در آن از مایع آمنیوتیک انسانی جهت کاهش چسبندگی‌های اطراف تاندون در خرگوش استفاده شد.<sup>۱۱</sup>

در مطالعه‌ای دیگر اثر مثبت مایع آمنیوتیک انسان در بهبود روند التیام ضایعات عصبی محیطی نشان داده شد.<sup>۱۲</sup> از طرف دیگر در مطالعه‌ای که توسط Golan و همکارانش انجام شد هیچ تأثیری از تزریق مایع آمنیوتیک داخل شکم برای

آمدن، جهت نگهداری و در صورت صلاحدید، استفاده در مطالعات آتی در اختیار مرکز پروفیسور ترابی نژاد قرار گرفتند.

اطلاعات جمع‌آوری شده جهت آنالیز آماری در نرم مخصوص نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۰ قرار گرفت و با استفاده از تست Mann Whitney آنالیز و  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

جدول ۲ مقایسه توزیع فراوانی درجه چسبندگی داخل شکمی در دو گروه کنترل و مورد را نشان می‌دهد.

جدول ۲- مقایسه توزیع فراوانی درجه چسبندگی در دو گروه مورد و کنترل

درجه چسبندگی	گروه‌ها			
	گروه مورد	گروه کنترل		
۰	۷	۴۶/۷٪	۱	۶/۷٪
۱	۳	۲۰٪	۱	۶/۷٪
۲	۲	۱۳/۳٪	۶	۴۰٪
۳	۲	۱۳/۳٪	۳	۲۰٪
۴	۱	۶/۷٪	۴	۲۶/۷٪
جمع	۱۵	۱۰۰٪	۱۵	۱۰۰٪

همانطور که مشاهده می‌شود در گروه مورد، بیشترین فراوانی مربوط به درجه صفر و کمترین فراوانی مربوط به درجه ۴ است. در حالی که در گروه کنترل بیشترین فراوانی مربوط به درجه ۲ و کمترین فراوانی مربوط به درجه صفر و یک می‌باشد ( $P=0.008$ ).

همچنین میانگین درجه چسبندگی در دو گروه مورد و کنترل نیز مورد محاسبه و ارزیابی قرار گرفت که به صورت زیر می‌باشد (جدول ۳).

جدول ۳- میانگین درجه چسبندگی در گروه‌های مورد و کنترل

گروه	میانگین درجه چسبندگی	انحراف معیار	خطای استاندارد
مورد	۱/۱۳	۱/۳۵	۰/۳۵
کنترل	۲/۵۳	۱/۱۸	۰/۳۰

آمنیوتیک می‌تواند در کاهش چسبندگی داخل شکمی پس از عمل جراحی، مؤثر باشد. البته در این امر نیاز به آزمایشات بیشتری به صورت بالینی نیز می‌باشد. همچنین بررسی و آنالیز مایع آمنیوتیک حاصل از جنین‌های با جنس‌های مختلف نیز شاید بتواند دریچه‌ای از ناگفته‌های مربوط به مایع آمنیوتیک را باز کند.

### پیشنهادهات

در این مطالعه، به جنسیت جنینی که مایع آمنیوتیک از مادر وی گرفته می‌شود توجه نشد. می‌توان در مطالعات آینده تأثیر جنسیت جنین را نیز در کاهش چسبندگی داخل شکمی مورد بررسی قرار داد.

نتایج به دست آمده در این مطالعه حاکی از نقش مؤثر مایع آمنیوتیک در کاهش چسبندگی داخل شکمی می‌باشد اما احتیاج به انجام مطالعات بیشتر و در صورت امکان تجربیات بالینی می‌باشد.

جهت سهولت در تهیه مایع آمنیوتیک، نیاز به همکاری بیشتر با مراکز زنان و زایمان می‌باشد. با توجه به اینکه در تهیه مایع آمنیوتیک با شرایط مورد نظر در این مطالعه، با مشکلاتی مواجه شدیم، در صورت انجام مطالعات بیشتر، نیاز به ارتباط بیشتری بین سرویس‌های جراحی و زنان و زایمان جهت یافتن روش مؤثرتری برای گرفتن مایع آمنیوتیک با شرایط استریل می‌باشد.

جلوگیری از چسبندگی روده به دست نیامد.<sup>۱۲</sup> ولی در مطالعه‌ای که ما با استفاده از مایع آمنیوتیک انسان انجام دادیم، کاهش قابل توجهی در تولید باندهای چسبندگی داخل شکمی مشاهده شد که می‌توان آن را به اثر اسید هیالورونیک موجود در مایع آمنیوتیک مربوط دانست.

در این مطالعه از مایع آمنیوتیک مربوط به سه خانم مختلف استفاده شد. در حین بررسی نتایج متوجه شدیم که موش‌های صحرایی که درجات پایین چسبندگی داشتند (درجات صفر و یک) از مایع آمنیوتیک مربوط به دو خانم استفاده کرده بودند. اما موش‌های صحرایی که درجات بالای چسبندگی داشتند همگی از مایع آمنیوتیک یک خانم دیگر استفاده کرده بودند. بنابراین احتمال تفاوت خواص مایع آمنیوتیک افراد مختلف و یا تفاوت سطح اسید هیالورونیک و یا تأثیر جنسیت جنین بر میزان بروز چسبندگی وجود دارد که این امر نیازمند مطالعه بیشتر و نیز بررسی دقیق تر سطح هیالورونیک اسید مایع آمنیوتیک افراد مختلف و اثر آن بر چسبندگی و نیز تأثیر جنسیت جنین بر چسبندگی می‌باشد.

با توجه به نتایجی که در مطالعه ما به دست آمده است و نیز با توجه به خواص ترمیمی اسیدهیالورونیک موجود در مایع آمنیوتیک و همچنین توجه به این مطلب که در موش‌های صحرایی مورد آزمایش ما در این مطالعه، هیچ گونه عارضه خاصی مورد مشاهده قرار نگرفت، به نظر می‌رسد که مایع

**Abstract:**

## **Effects of Amniotic Fluid in Prevention of Abdominal Adhesion after Laparotomy in Rat Models**

*Nourian S.E MD<sup>\*</sup>, Ghoraishi M. MD<sup>\*\*</sup>, Goharian V. MD<sup>\*\*\*</sup>, Sehat S. MD. FACS<sup>\*\*\*\*</sup>*

**Introduction & Objective:** Many studies were done and designed to determine the pathophysiology and to find a way to reduce the formation of adhesion bands after laparotomy. The purpose of our study was to determine the effect of amniotic fluid in prevention of post laparotomy adhesion formation in rat models.

**Materials & Methods:** Our study was experimental and laboratory. Thirty adult male rat were used in this study, divided in to two equal groups randomly.

We opened the abdominal wall, then 1 × 1 cm peritoneal layer was excised from the left abdominal wall and 10 longitudinal incision of 2 to 3 cm in length were made on the right parietal peritoneum after that we filled the abdomen of the rats of group I (case group) with 5 cc of amniotic fluid and filled the abdominal of the rats group II (control group) with 5 cc normal saline. Second laparotomy carried out 14 day after the first laparotomy and abdominal adhesion were scored in order to Ahmet Canbaz scale and analyzed with Mann – withney test;  $P < 0.05$  was significant.

**Results:** After analysis we saw a significant difference between two group ( $P=0.008$ ). The average of adhesion score were  $1.13 \pm 1.3$  in group I and  $2.5 \pm 1.18$  in group II ( $P<0.05$ ).

**Conclusions:** Our study showed that Amniotic fluid is capable to reduce the formation of adhesion bands after laparotomy.

***Key Words: Adhesion Band, Amniotic Fluid, Rat***

<sup>\*</sup> Assistant Professor of General Surgery, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services, Al-Zahra Hospital, Esfahan, Iran

<sup>\*\*</sup> Resident of General Surgery, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services, Al-Zahra Hospital, Esfahan, Iran

<sup>\*\*\*</sup> Resident of Thoracic Surgery, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services, Al-Zahra Hospital, Esfahan, Iran

<sup>\*\*\*\*</sup> Professor of Surgery, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services, Esfahan, Iran

## References:

1. Ellis H. Adhesion related hospital readmission after abdominal pelvic surgery. *Lancet*. 1999; 353:1476-80.
2. Arsar FM, Sahin M, Aksoy F, Arsar AF, Akoz M , et al. Effect of diphenhydramine HCL and methylprednisolone in the prevention of abdominal adhesion. *American J. of surgery*, 2001; 181: 512-15 .
3. Hellebrekers Bort WJ. Trimbos kemper trudy CM, Trimbos J. Baplist MZ. Adhesion formation; Fertility and sterility 2000; 74 (2): 203-12.
4. Longaker MT. The biology of fetal wound healing: A Review .*Plastic Reconser Surg* 1990; 87:788.
5. Ahemet CM, Ustun C, Kocak I, F yanik F; The comparison of gonado tropin releasing hormone agonist therapy and interaperitoneal ringers lactate solution in prevention of postoperative adhesion formation in rat model. *Euro J .of obstetrics and gynecology and reproductive Bio*, 1999: 82; 219-22.
6. Nemir P: intestinal obstruction; Ten - Year statistical survey at the Hospital of the university of Pennsylvania. *Ann surg* 1952; 135: 367-75.
7. Perry JF, Smith Ga, Yonehiro EG: Intestinal obstruction caused by adhesion a review of 388 cases. *Ann surg* 1955; 142: 810-6.
8. Fevang B-TS, Ferang J, Lie SA, et al. Longterm prognosis after operation for adhesion small bowel obstruction. *Ann surg* .2004; 240.
9. Raf LE: Causes of small intestinal obstruction; study covering the Stockholm area. *Acta chir scand* 1969; 135: 67-72.
10. Ryan GB, Grobety J, Majno G: Postoperative peritoneal adhesions. *Am J pathol* 1971; 65: 117-48.
11. Ozgenel GY, Samil B, Ozcan M. Effects of human amniotic fluid on peritedinous adhesion formation and tendon healing after flexor tendon surgery in rabbits. *J hand surg [AM]*, 2001: 26(2): 332-9.
12. Ozgenel GY, Samli B, Ozcan M. Effect of human Amniotic fluid on peripheral never scarring and regeneration in Rats .*J nevro surgery*, 2003: 98(2): 371-7.
13. Golan .A, Stolik O .The effect of amniotic fluid on intraperitoneal adhesion formation an experimental study. *Int J fertile*, 1991: 36(5): 317-20.